

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1922

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Edouard DELBECQ

Lauréat de la Société de Médecine de Paris

LA PRÉSENCE DU BACILLE DE KOCH

DANS LE

SANG DES TUBERCULEUX

Président : M. BEZANÇON, professeur.

A. MALOINE & FILS, ÉDITEURS

27 — RUE DE L'ÉCOLE - DE - MÉDECINE — 27

PARIS 1922

083

330

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE

083

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1922

THESE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Edouard DELBECQ

Lauréat de la Société de Médecine de Paris

LA PRÉSENCE DU BACILLE DE KOCH

DANS LE

SANG DES TUBERCULEUX



Président : M. BEZANÇON, professeur.

A. MALOINE & FILS, ÉDITEURS

27 — RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE — 27

PARIS 1922

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

LE DOYEN : M. ROGER
ASSESEUR : G. POUCHET
PROFESSEURS

	MM
Anatomie.	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale	CUNEO
Physiologie.	CH. RICHET
Physique médicale	ANDRÉ BROCA
Chimie organique et Chimie générale	DESGREZ
Bactériologie	BEZANÇON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales.	MARCEL LABBÉ
Pathologie médicale	RENON
Pathologie chirurgicale.	LECENE
Anatomie pathologique.	LETULLE
Histologie	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET
Thérapeutique	CARNOT
Hygiène.	BERNARD
Médecine légale.	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée.	ROGER
	ACHARD
Clinique médicale	WIDAL
	GILBERT
	CHAUFFARD
Hygiène et clinique de la 1^{re} enfance	MARFAN
Clinique des maladies des enfants.	NOBECOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	CLAUDE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux.	PIERRE MARIE
Clinique des maladies contagieuses	TEISSIER
	DELBET
Clinique chirurgicale	GOSSET
	LEJARS
	HARTMANN
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires.	LEGUEU
	BAR
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE
	BRINDEAU
Clinique gynécologique.	J.-L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile	AUGUSTE BROCA
Clinique thérapeutique.	VAQUEZ
Clinique d'Oto-rhino-laryngologie.	SEBILEAU
Clinique thérapeutique chirurgicale	PIERRE DUVAL

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.			
ABRAMI	DUVOIR	LARDENNOIS	RATHERY
ALGLAVE	FISSINGER	LELORIER	REITTERER
BASSET	GARNIER	LEMIERRE	RIBIERRE
BAUDOUIN	GOUGEROT	LEQUEUX	RICHAUD
BLANCHETIERE	GREGOIRE	LEREBoullet	ROUSSY
BRANCA	GUENIOT	LERI	ROUVIERE
CAMUS	GUILLAIN	LEVY-SOLAL	SCHWARTZ(A.)
CHAMPY	GUILLEMINOT	MATHIEU	TANON
CHEVASSU	HEITZ-BOYER	METZGER	TERRIEN
CHIRAY	JOYEUX	MOCQUOT	TIFFENEAU
CLERC	LABBE HENRI	MULON	VILLARET
DEBRE	LAILLON-LAVASTINE	OKINCZYC	
DESMAREST	LANGLOIS	PHILIBERT	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON GRAND-PÈRE

LE DOCTEUR CH. DELBECQ

A MON PÈRE

LE DOCTEUR G. DELBECQ

A MON ONCLE

LE DOCTEUR S. DELBECQ

A LA MÉMOIRE DE MA SŒUR

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MES AUTRES PARENTS

A MON AMI J. J. DEREUX

A MES MAÎTRES

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
M. LE PROFESSEUR BEZANÇON

*En témoignage de respect
et de reconnaissance.*

LA PRÉSENCE DU BACILLE DE KOCH DANS LE SANG DES TUBERCULEUX

INTRODUCTION

Depuis que l'étude de la tuberculose est entrée dans le domaine expérimental, un nombre considérable de travaux a été consacré à la recherche du bacille tuberculeux dans le sang, à la signification de sa présence et à l'étude des influences pouvant déterminer son passage dans la circulation générale. Dès 1866 Villemin montrait que le sang pris au lapin tuberculeux ou aux malades phtisiques était virulent pour le lapin. Mais c'est surtout à partir de 1903, après la publication de la méthode d'inoscopie de Jousset, que se multiplièrent les travaux relatifs à cette importante question, sur laquelle l'accord est loin d'être fait à l'heure actuelle.

Les auteurs allemands et divers auteurs étrangers, après une longue série concordante de recherches, avaient admis la fréquence et la constance de la bacillémie, et de ce fait, paraissant bien établi, on avait tiré une foule de conclusions ; on voulait faire de la recherche du bacille dans le sang un moyen de diagnostic, un élément de pronostic, et même Ham-

burger avait édifié sur cette base une conception toute nouvelle de la tuberculose ; celle-ci devenait une septicémie au cours de laquelle les localisations n'étaient que des épisodes secondaires.

L'école française attaqua les bases expérimentales qui avaient servi à édifier cette théorie, fit la critique des méthodes de recherche, et, procédant par inoculations au cobaye, obtint des résultats complètement discordants.

Léon Bernard, Debré et Baron, à la suite de travaux très bien conduits, aboutissent à des conclusions formelles :

« Les auteurs, disent-ils, qui ont constaté chez les tuberculeux la bacillémie avec une très grande fréquence n'ont dû ce résultat qu'à des techniques erronées ; ces constatations sont fausses. Lorsqu'on pratique la recherche du bacille de Koch dans le sang avec des techniques exactes, celui-ci n'est rencontré que très exceptionnellement chez les tuberculeux. » (*Annales de Médecine*, février 1914, p. 248). Et cependant, d'autres auteurs français, Calmette notamment ont à l'heure actuelle une opinion absolument différente basée surtout il est vrai sur des expériences faites sur des cobayes, mais conduite avec une méthode expérimentale rigoureuse. Calmette, dans son livre récent sur l'infection bacillaire, consacre un chapitre entier à l'étude de la bacillémie, et tout en remarquant que celle-ci est en général discrète et n'a rien à voir avec la septicémie tuberculeuse des Allemands, conclut que « la méthode

expérimentale nous fournit la preuve que dans l'infection tuberculeuse, même discrète, le sang véhicule presque constamment des bacilles » (*Infection bacillaire*, p. 225).

Impressionné par la discordance des résultats obtenus par des auteurs si compétents, nous avons essayé de nous faire une opinion personnelle sur la question, et nous avons entrepris les recherches dont nous rendons compte dans notre thèse. Nous sommes heureux d'adresser ici tous nos remerciements à M. le docteur Berthelon qui voulut bien nous aider au cours de nos travaux et leur apporter le contrôle de sa grande expérience clinique et scientifique.

HISTORIQUE

Il n'entre pas dans le plan de notre thèse de faire un historique complet de la question. Celui-ci a été fait maintes fois, notamment dans les mémoires de Léon Bernard, Debré et Baron en 1914, et plus récemment dans le livre de Calmette sur l'infection bacillaire. Il serait donc superflu de copier un travail admirablement fait. Avant d'exposer nos recherches personnelles, nous ferons simplement un bref exposé des principales méthodes de recherche du bacille tuberculeux dans le sang, des critiques qu'on leur a faites et des causes d'erreur auxquelles elles sont sujettes.

Ces méthodes sont de trois ordres : l'hémoculture, la méthode d'examen direct du sang sur lames, et l'inoculation au cobaye. Ces deux derniers procédés sont les seuls qui aient donné lieu à de nombreux et importants travaux.

L'hémoculture a été employée par Anderson qui ensemençait sur pommes de terre glycerinées le culot obtenu par centrifugation du sang citraté. Il n'obtint aucun résultat positif.

Ce résultat ne surprend pas, car on sait que sur les milieux de culture le bacille tuberculeux ne pousse que s'il est ensemençé largement.

Nous avons nous-même essayé d'ensemencer du sang de malades tuberculeux, soit sur milieu à l'œuf de Dorset, soit sur le milieu de culture décrit récemment par Pétrof puis par Limousin pour l'isolement direct des bacilles à partir des crachats. Ce milieu est composé de bouillon de veau, d'œuf et de violet de gentiane.

Pour faire nosensemencements, nous avons utilisé le procédé décrit par Sabathe et Buguet pour la recherche directe des bacilles tuberculeux. Ces auteurs laissent coaguler 5 à 10 centimètres cubes de sang recueilli par ponction veineuse dans un tube stérile. Ils recherchent les bacilles par coloration au Ziehl de la partie la plus superficielle du caillot qui, par suite de la rétraction du coagulum serait la plus riche en bacilles.

Nous avons recueilli cette portion du caillot, et nous l'avons ensemencée sur des tubes de culture.

Six essais faits de cette façon avec du sang de tuberculeux pulmonaires chroniques non fébriles, n'ont donné aucun résultat positif.

Méthodes d'examen direct du sang

Etant donné qu'on ne peut se contenter du simple examen d'une goutte de sang étalée sur lame, de nombreux auteurs ont imaginé des méthodes tendant à réunir les bacilles d'une certaine quantité de sang dans le plus petit volume possible de substance.

La première en date de ces méthodes et l'une des plus importantes est la méthode d'inoscopie de Jousset. Cette méthode consiste à laisser coaguler une certaine quantité de sang, et à soumettre le caillot à l'action d'un suc gastrique artificiel. On centrifuge alors le liquide résultant de la digestion du caillot, et on examine le culot étalé sur lames.

Avec cette méthode, Jousset avait obtenu une proportion de 31 o/o de résultats positifs. Mais la méthode est sujette à certaines causes d'erreur qui en diminuent la valeur.

En effet, les manipulations assez compliquées, l'addition d'un grand volume de substances étrangères, exposent le sang à la contamination par des bacilles acido-résistants différents du bacille de Koch, ce qui vient fausser les observations.

Nous ne ferons que citer quelques méthodes publiées après les travaux de Jousset, car elles n'ont donné lieu qu'à très peu de travaux et sont d'ailleurs passibles des reproches faits à l'inoscopie. Ce sont : les méthodes de Besançon, Philibert et Griffon, qui homogénéisent le caillot sanguin par de la lessive de soude (mais cette homogénéisation imparfaite ne donne qu'un liquide visqueux d'où la centrifugation sépare difficilement les bacilles), les méthodes de Nattan-Larrier et Bergeron, de Lœper et Louste, de Lesieur et Courmont.

Plus importante, en raison du nombre d'auteurs qui l'ont utilisée, et des discussions qu'elle a soulevées, est la méthode à l'antiformine.

Cette méthode utilisée par nombre d'auteurs étrangers et surtout allemands, avec diverses variantes, consiste essentiellement dans le laquage du sang (5 à 10 cmc.) par 5 volumes de solution aqueuse d'oxalate neutre de potasse à 0,2 o/o, ou par 2 volumes de solution d'acide acétique à 1 o/o ou par 1 volume d'acide citrique à 1 o/o. On centrifuge, on décante et on dilue le culot dans 1 centimètre cube d'eau distillée. On ajoute alors quelques gouttes d'antiformine pure, ou 3 volumes d'antiformine à 15 o/o en remuant jusqu'à clarification complète, puis on remplit le tube d'alcool à 60 et on centrifuge. Le culot est étalé sur lames et coloré par la méthode de Ziehl ou de Much.

En employant cette technique, Schnitter trouve des bacilles tuberculeux dans un tiers des cas, Liebermeister, chez 30 o/o des tuberculeux à la deuxième période, Lippmann, dans 33 o/o des cas, Mammen, douze fois sur quinze.

Suzuki et Takaki font en même temps l'analyse du sang et la cuti-réaction, ils obtiennent 478 résultats positifs sur 516, et observent un parallélisme constant entre les deux phénomènes.

Kurashige, non seulement trouve des bacilles chez tous les malades examinés, mais il répète les examens chez le même malade et conclut à la persistance de la bacillémie. De nombreux auteurs allemands : Rumpf, Kennerknecht, Hilgermann et Lossen, Duchinoff, Klemperer, Ranstrom, etc... apportent des résultats de même sens.

Déjà, en Amérique, Rosenberger, puis Petty et Mendenhall, avec une méthode un peu différente avaient trouvé des bacilles dans le sang de presque tous les malades examinés.

L'annonce de résultats si importants n'avait pas été sans soulever quelques discussions, et plusieurs auteurs, avec les techniques décrites n'avaient pas réussi à retrouver les bacilles dans le sang des tuberculeux avec une aussi grande fréquence.

Mais la critique de ces travaux a surtout été faite en France, et en particulier dans un important travail de Léon Bernard, Debré et Baron.

Ces auteurs ont bien indiqué les défauts de la méthode à l'antiformine, et en général de toutes les méthodes d'examen direct du sang.

Le plus important est certainement le danger de contamination du sang en expérience par des bacilles acido-résistants non pathogènes. Toutes les méthodes comportent des lavages à l'eau distillée. Or l'eau distillée conservée dans les laboratoires contient fréquemment des acido-résistants. Il en est de même de la pepsine, de la trypsine, des râclures de flacons de laboratoire. Léon Bernard, Debré et Baron ont même trouvé des formations acido-résistantes dans une solution d'antiformine.

Un autre reproche fait aux méthodes d'examen direct du sang, c'est que des débris cellulaires, des stromas d'hématies en particulier, vraisemblablement riches en lipoides, peuvent être acido-résistants et laisser, même sur une préparation bien faite,

des figures ressemblant plus ou moins au bacille de Koch. Dans nos analyses, nous avons nous-même remarqué la difficulté de décolorer complètement les lames, sur lesquelles il persiste fréquemment des débris cellulaires colorés par la fuchsine. Mais nous croyons qu'un examen minutieux et surtout impartial peut toujours faire distinguer ces formations des bacilles tuberculeux.

Ces causes d'erreur réduisent considérablement la valeur des travaux allemands.

Léon Bernard, Debré et Baron ont créé une technique personnelle où ils cherchent à se mettre à l'abri des mêmes critiques.

Ils recueillent 10 centimètres cubes de sang par ponction veineuse dans un tube stérile contenant 20 centimètres cubes d'alcool à 30 degrés. Le laquage du sang commence aussitôt, et est complété par addition progressive de 30 centimètres cubes d'alcool à 40 degrés. Le liquide est centrifugé, à grande vitesse, puis décanté. Le culot de centrifugation est remis en suspension dans un peu d'eau distillée, et dissous par addition de I ou II gouttes de solution alcoolique de soude au dixième. On centrifuge de nouveau, et le culot restant est étalé sur lame et coloré au Ziehl, avec décoloration par l'acide nitrique au tiers et l'alcool absolu.

Avec cette méthode les auteurs n'ont trouvé de bacilles dans le sang que sept fois sur 65.

Plusieurs auteurs français : Rist, Armand-Delille et Lévy-Bruhl, Nobécourt et Darré, de Verbizier,

recherchant la bacillémie, soit par le procédé de Léon Bernard, soit par l'antiformine, ne trouvent de bacilles dans le sang que très rarement.

Cette technique constitue certainement un progrès sur toutes les méthodes précédentes, et les résultats obtenus ont par suite une valeur plus grande. Mais elle ne met pas complètement à l'abri des causes d'erreur précédemment signalées. En effet, il nous est arrivé, au cours de nos recherches personnelles, de trouver des bacilles acido et même dans une certaine mesure alcool-résistants dans une solution d'alcool à 40 degrés qui avait séjourné un certain temps au laboratoire.

En utilisant plusieurs fois cette technique au début de nos recherches, nous nous sommes rendus compte d'un autre inconvénient de la méthode : les auteurs, après le laquage du sang, voulant éviter la viscosité résultant d'une dissolution incomplète des globules blancs, n'ajoutent qu'une quantité infime de soude, de I à II gouttes de lessive de soude en solution alcoolique au dixième. Cette quantité est insuffisante pour homogénéiser complètement les leucocytes.

Il reste donc un culot relativement volumineux de globules blancs mal dissous, au milieu desquels il est bien difficile de chercher les bacilles. Il en résulte un défaut de sensibilité de la méthode.

En outre, les auteurs reconnaissent eux-mêmes à leur technique un défaut important : « Mais toutes les méthodes d'examen direct, disent-ils, même la nôtre, ont le grave inconvénient de ne faire porter la

recherche que sur une quantité relativement petite de sang. C'est là un défaut capital qui restreint la portée de ces méthodes, et interdit d'accorder à leurs résultats une valeur absolue. »

D'après eux, et c'est actuellement l'opinion de tous les auteurs français, le seul critérium certain de la présence du bacille de Koch dans le sang, est l'inoculation au cobaye. Avant de passer à l'étude de ce dernier procédé, il nous reste à étudier une méthode récente de recherche du bacille tuberculeux dans le sang, publiée en 1920 par Sabathe et Buguet, méthode très intéressante, car elle comporte beaucoup moins de causes d'erreur que les précédentes.

D'après les auteurs, au moment de la coagulation du sang, la contraction du caillot chasserait vers la surface extérieure les corps bacillaires contenus dans la masse du coagulum. Ce serait donc tout à la surface du caillot, dans la zone le séparant du sérum qu'il faudrait les chercher. La manipulation consiste à recueillir 5 centimètres cubes de sang dans le tube stérile, à laisser le sang se coaguler et le caillot se rétracter. Après avoir enlevé le sérum à la pipette, on prélève une parcelle de la partie superficielle supérieure du caillot, qu'on étale sur lames et qu'on colore au Ziehl.

En suivant cette technique, les auteurs ont trouvé des bacilles dans le sang de tous les tuberculeux examinés (130 cas). Ces résultats n'ont pas encore été confirmés à l'heure actuelle, mais la méthode est intéressante, car, ne comportant l'addition d'aucune

substance étrangère, elle supprime la cause d'erreur la plus importante, la contamination par les bacilles acido-résistants.

Inoculation

L'inoculation reste donc le procédé le plus sûr pour déceler la bacillémie, à condition de s'entourer de certaines précautions qui ont été bien précisées par Léon Bernard, Debré et Baron.

Ces auteurs écartent avec raison les faits annoncés par certains auteurs allemands, qui concluaient à des inoculations positives du fait qu'ils retrouvaient dans le sang des cobayes inoculés les mêmes bacilles acido-résistants, qu'ils avaient trouvé par examen direct dans le sang des malades. Ils contestent également l'opinion de Jousset qui admet comme suffisante l'apparition d'une adénopathie discrète chez le cobaye, même en l'absence de toute généralisation tuberculeuse.

Nous pensons, disent-ils, qu'on ne peut affirmer qu'une inoculation est positive, que lorsque l'animal présente un chancre, des ganglions et une tuberculose généralisée.

Ces précautions sont peut-être un peu exagérées, et nous croyons pour notre part que l'apparition d'une lésion caséuse chez le cobaye, avec hypertrophie ganglionnaire, est suffisante pour admettre la tuberculisation, surtout si l'on ajoute le contrôle de l'examen microscopique des lésions trouvées.

Quoiqu'il en soit, la méthode est passible d'un

inconvénient beaucoup plus grave : c'est le défaut de sensibilité.

En effet, le sang non chauffé inoculé en nature est toxique pour le cobaye à la dose de 8 à 10 centimètres cubes, et l'on ne peut dépasser cette dose sans risquer de faire périr l'animal en expérience. Or, Calmette a démontré, qu'il faut un minimum d'au moins 10 bacilles virulents injectés par voie intra-veineuse pour tuberculiser un cobaye. Une bacillémie discrète échappera donc au contrôle de l'inoculation.

Calmette a en outre fait à la méthode d'inoculation le reproche d'introduire chez le cobaye, en même temps que les bacilles, une certaine quantité de sérum capable de renfermer des anticorps qui pourraient empêcher le développement de la tuberculose. Nous croyons que ce dernier reproche n'est pas fondé, car Calmette lui-même, avec Boquet et Nègre, a démontré récemment que des sérums riches en anticorps tuberculeux, non seulement sont incapables d'accomplir la lyse du bacille, mais encore ne peuvent gêner en aucune façon le développement de la tuberculose expérimentale du cobaye.

L'inoculation au cobaye avait été employée déjà par divers auteurs allemands cherchant à contrôler les résultats obtenus par l'examen direct, mais elle a surtout été utilisée par les auteurs français.

Léon Bernard, Debré et Baron recueillent 10 à 15 centimètres cubes de sang dans des tubes paraffinés pour empêcher la coagulation. Ils centrifugent

aussitôt, et inoculent le plasma sous la peau d'un cobaye, et les globules sous la peau d'un second animal. En opérant de cette façon, ils n'ont obtenu que quatre résultats positifs sur 41 cas examinés.

Rist, Armand-Delille et Levy-Bruhl, en inoculant à leurs animaux 6 à 7 centimètres cubes de sang complet, n'ont obtenu qu'un seul résultat positif sur 50 cas.

De Verbizier, ne trouve jamais de bacilles dans le sang de 15 malades, soit par examen direct, soit par inoculation de 5 centimètres cubes de sang.

Nobécourt et Darré, ont recherché la bacillémie chez les enfants, en injectant au cobaye de 3 à 7 centimètres cubes de sang prélevé par ponction veineuse ou au moyen de sangsues. Ils n'ont obtenu de résultats positifs que quatre fois sur 40 malades examinés.

Récemment, Turquety a étudié également la bacillémie des nourrissons en leur prélevant 10 centimètres cubes de sang par ponction du sinus longitudinal supérieur, et en l'injectant au cobaye trois fois seulement sur quatorze le résultat a été positif.

Par contre, en 1921, un auteur anglais, Distaso, en inoculant dans le péritoine des cobayes 10 centimètres cubes de sang, prélevé chez des malades atteints de lésions pulmonaires chroniques *sans fièvre et avec bon état général*, a obtenu 9 résultats positifs (tuberculose généralisée du cobaye), 2 résultats probables (hypertrophie ganglionnaire et splénique) et un seul résultat négatif sur 12 cas examinés.

En opérant au contraire avec le sang de malades atteints de lésions pulmonaires avancées, avec fièvre élevée (39-40) et mauvais état général, le résultat a été négatif dans tous les cas (40 malades).

Nous soulignerons plus loin, en exposant nos résultats personnels, l'importance de ce dernier résultat.

Nous ferons cependant remarquer dès maintenant, que tous les auteurs qui ont obtenu des résultats négatifs, n'ont étudié que le sang de malades atteints de tuberculose aiguës, ou de tuberculoses évolutives avec fièvre élevée.

Par exemple, Léon Bernard cite parmi les malades qu'il a étudiés : 3 granulies, 7 méningites, 1 pneumonie caséuse, 5 broncho-pneumonies, 3 pleurésies séro fibrineuses aiguës, 3 hémoptysies, 10 tuberculoses chroniques en poussée évolutive, 2 tuberculoses avec albuminurie, 8 tuberculoses à localisations multiples, 1 adénie, 1 endo-péricardite tuberculeuse aiguë et 7 malades divers suspects de tuberculose.

Très rares sont les examens pratiqués au cours de tuberculoses chroniques.

Devant cet ensemble de résultats contradictoires, il reste bien difficile de se faire une opinion. Cependant, il s'en dégage une conclusion très nette : c'est que si le bacille tuberculeux est présent dans le sang, c'est toujours en petite quantité, et qu'il ne s'agit pas à proprement parler d'une septicémie, d'une infection sanguine au cours de laquelle les bacilles végèteraient dans le sang et s'y développeraient.

Par contre, le défaut de sensibilité des méthodes employées, soit inoculation, soit examen direct, ne permet pas d'accorder de valeur absolue aux résultats observés et de nier la réalité d'une bacillémie discrète n'ayant rien à voir avec la septicémie tuberculeuse des auteurs étrangers.

Toute méthode nouvelle doit donc tendre à examiner une plus grande quantité de sang, en se mettant à l'abri de causes d'erreur bien connues et qu'il est certainement possible d'éviter. C'est le but que nous avons recherché dans le travail que nous exposerons plus loin.

La bacillémie expérimentale

Avant de terminer cet historique rapide, il nous reste à citer les recherches faites sur la bacillémie du cobaye. En opérant par transfusion du sang, Breton, Massol et Duhot ont pu préciser la fréquence, la durée et l'intensité de la bacillémie à la suite des divers modes d'inoculation. Dans une première expérience, deux séries de dix cobayes de même poids reçoivent une même dose de 1 milligramme de bacilles tuberculeux, les uns dans la veine jugulaire, les autres sous la peau. A des périodes variables allant de une heure à soixante jours, leur sang est inoculé par transfusion de la carotide dans la jugulaire, à un même nombre de cobayes sains. Chaque cobaye neuf reçoit environ 10 centimètres cubes de sang de l'animal tuberculeux.

Tous les cobayes transfusés, sans exception, sont morts d'infection tuberculeuse généralisée dans une période de trente à cent jours.

Dans d'autres expériences, les mêmes auteurs ont vu qu'après inoculation sous-cutanée d'un dixième de milligramme seulement de culture virulente, le sang des cobayes se montre toujours infectant pour les cobayes neufs, lorsque la transfusion est effectuée du premier au quarante-septième jour après l'infection initiale.

Si l'infection des transfuseurs est réalisée avec des doses minimales, de un centième à un cent millième de milligramme, la bacillémie devient moins régulière, et une partie seulement de cobayes transfusés prend la tuberculose.

Dans toutes ces expériences, si l'on tient compte de l'intensité des lésions chez les cobayes transfusés, on peut voir que l'infection sanguine est à son maximum vers le dixième jour et tend à décroître par la suite.

Léon Bernard, Debré, et Baron, en cherchant à contrôler la fidélité de leur méthode d'examen direct, ont également étudié la bacillémie du cobaye. Leur conclusion est que la bacillémie est constante chez les cobayes infectés par voie intraveineuse avec 1 milligramme de bacilles tuberculeux.

Chez les cobayes inoculés par voie sous-cutanée avec la même dose de culture virulente, ils ne retrouvent les bacilles que dans un tiers des cas. Ces résultats obtenus par la méthode d'examen direct, ont

naturellement une valeur moindre que ceux de Breton, Massol et Duhot, car il est bien difficile de trouver une critique à formuler contre les expériences si précises de ces derniers.

On peut donc conclure à la fréquence de la bacillémie au cours de la tuberculose expérimentale du cobaye.

RECHERCHES PERSONNELLES.

Pour éviter autant que possible les reproches formulés aux méthodes précédentes, nous avons mis au point un procédé personnel de recherche du bacille dans le sang d'après les deux directives suivantes : augmenter la sensibilité de la méthode ; éviter les causes d'erreur pouvant fausser les résultats. Nos premières recherches ont été faites à l'aide de cette méthode d'examen direct que nous allons décrire.

Par la suite, pour contrôler la valeur des résultats obtenus, nous avons employé l'inoculation au cobaye en suivant une technique établie d'après les mêmes directives.

Procédé d'examen direct

Il comprend trois opérations principales : hémolyse des globules rouges, homogénéisation des globules blancs, et coloration du culot de centrifugation.

1° Après lavage soigneux de la peau à l'éther, le sang est prélevé par ponction veineuse au pli du coude. On recueille 20 centimètres cubes de sang

dans un ballon stérile contenant 60 centimètres cubes du liquide suivant :

Alcool à 40°.....	100 cc.
Citrate de soude.....	0,25

préalablement filtré sur bougie Chamberland.

Le sang ne se coagule pas, et il suffit d'agiter pour que l'hémolyse soit complète et immédiate.

Le mélange est alors centrifugé pendant une demi-heure à grande vitesse (6000 tours).

On obtient ainsi un culot contenant de rares débris d'hématies, les globules blancs assez bien conservés, et les bacilles.

Déjà à ce moment, il est intéressant de prélever une partie du culot, de l'étaler sur lame, et de la colorer par la méthode de Ziehl. Avec de la chance et de la patience, on peut ainsi trouver parfois des bacilles ; la chose en vaut la peine, car, détail important, nous avons pu trouver plusieurs fois de cette façon des bacilles intra-cellulaires (à l'intérieur de polynucléaires).

2° Recueillir le culot dans une capsule de porcelaine stérilisée et ajouter 60 centimètres cubes d'eau distillée filtrée sur bougie Chamberland, et vingt gouttes de lessive de soude à 30 o/o. Porter à l'ébullition en agitant constamment et laisser bouillir quelques minutes.

Dans ces conditions, on peut constater que le liquide devient d'abord extrêmement visqueux. Mais, lorsqu'on approche de l'ébullition, il devient de

plus en plus fluide, et la dissolution des leucocytes est bientôt complète.

Cette phase de viscosité est due à ce fait, que dans l'hydrolyse par la soude, le globule blanc commence par se gonfler énormément avant de se dissoudre.

Il faut alors, avant de centrifuger de nouveau, ajouter au liquide clair un demi-volume d'alcool à 60 degrés, filtré sur bougie Chamberland, pour abaisser la densité du liquide. On répartit cette solution entre deux tubes à centrifuger à fond rétréci, et on centrifuge de nouveau une demi-heure à grande vitesse.

On obtient dans chaque tube un culot extrêmement réduit qu'on étale sur lame neuve et qu'on colore.

Nous avons toujours employé la méthode de Ziehl : coloration dix minutes à chaud, décoloration par l'acide nitrique au tiers, puis par l'alcool absolu ; recoloration au bleu de méthylène.

Nous insistons sur les précautions minutieuses qu'il est nécessaire de prendre pour que la méthode garde sa valeur.

Toutes les solutions, sans exception, ont été filtrées sur bougie de porcelaine et conservées en flacons stériles. Avant de les employer, nous en avons centrifugé une certaine quantité pour être certain qu'elles ne donnaient aucun culot et ne contenaient aucun élément figuré.

De plus, tous les objets, toute la verrerie servant

aux manipulations, ont séjourné entre chaque analyse dans l'acide sulfurique concentré ou l'acide nitrique fumant pendant vingt-quatre heures au moins. Ils ont été ensuite lavés et rincés à l'eau distillée filtrée sur bougie.

Mis en œuvre de la façon que nous venons de décrire, notre procédé est extrêmement sensible, car il réunit en un culot juste suffisant pour faire deux lames, la presque totalité des bacilles contenus dans 20 centimètres cubes de sang.

Malgré cela, la recherche est toujours longue et pénible. Il faut examiner les lames complètement et méthodiquement, en commençant par un bout et en finissant par l'autre, si l'on ne veut pas laisser passer inaperçus les quelques rares bacilles qu'elles renferment, et la recherche dure parfois plusieurs heures.

Nous ajouterons que les bacilles trouvés ont été très fréquemment contrôlés par deux, et souvent trois observateurs différents, habitués par de nombreuses analyses de crachats à bien connaître la morphologie du bacille de Koch. Nous nous sommes astreints à cette précaution pour éviter de confondre avec des bacilles tuberculeux les débris cellulaires qui restent parfois colorés sur les lames.

Résultats

A l'heure actuelle, nous avons fait avec notre procédé 76 analyses de sang. Quatre de ces analyses ont été faites chez des personnes saines, cliniquement indemnes de tout symptôme de tuberculose, et ont été négatives.

Les 72 autres analyses ont été faites avec le sang de 62 malades tuberculeux. Quatre malades ont eu 2 analyses, et 3 malades 3 analyses, à plus d'un mois d'intervalle.

Soizante-sept de ces analyses ont été positives. Elles ont toutes été faites chez des malades atteints de tuberculoses chroniques sans fièvre, et avec bon état général.

Un de ces malades était atteint de tuberculose péritonéale et ganglionnaire très améliorée par l'héliothérapie.

Un autre avait eu quelques mois auparavant une pleurésie purulente avec liquide pleural renfermant des bacilles de Kock. Très amélioré par l'évacuation du liquide et l'héliothérapie, il avait au moment de l'analyse un excellent état général et une température normale.

Tous les autres cas positifs étaient des cas de tuberculose pulmonaire chronique, avec lésions très variées et plus ou moins étendues, mais toujours sans fièvre et sans signes généraux d'évolution au moment de la prise de sang.

Parmi ces malades, 39 avaient des bacilles dans leurs crachats au moment de l'analyse; 18 n'en avaient pas; mais en avaient eu auparavant ou en eurent par la suite.

Huit seulement, atteints de lésions d'induration limitées et en voie d'amélioration, ou de tubercules fibreux, n'en eurent jamais, tout au moins pendant leur séjour au sanatorium.

Cinq analyses seulement sur 72 ont été négatives.

Parmi celles-ci, 3 l'ont été complètement, et nous considérons comme négatives deux autres analyses où malgré l'examen complet des lames, on ne put trouver que quelques rares granulations acido-résistantes, sans aucun bacille net et typique.

Ces 5 analyses négatives ont été faites avec le sang de malades très gravement atteints, et chez qui, détail important, une cuti-réaction faite le jour de la prise de sang fut complètement négative. Nous donnons ci-dessous les observations résumées de ces 5 cas :

Obs. 1 — Mme L... Caverne assez volumineuse du sommet droit. A gauche, foyer de râles humides dans les fosses sus et sous-claviculaires. Expectoration muco-purulente abondante renfermant de nombreux bacilles de Koch; évolution chronique malgré l'étendue des lésions. Température vespérale : 37,8 environ. Assez bon état général. Assez brusquement, la malade commence une poussée évolutive aiguë avec fièvre très élevée devant se terminer par la mort trois mois plus tard. L'analyse du sang est faite deux jours après le

début de la poussée aiguë. A ce moment la température dépasse 39 degrés. Une cuti-réaction faite le même jour avec de la tuberculine de l'Institut Pasteur reste négative. Analyse du sang négative.

Obs. 2. — M. P... Tuberculose évoluant assez rapidement depuis trois mois. Nombreux râles humides dans tout le poumon droit ; foyer étendu de râles humides au sommet gauche, température vespérale : 38° à 38°5. Etat général médiocre. Expectorations renfermant de nombreux bacilles de Koch. Deux mois environ avant la mort, poussée aiguë avec fièvre élevée atteignant 39°5, 40°. L'analyse de sang faite au troisième jour de cette poussée aiguë est négative. Cuti-réaction faite le même jour négative.

Obs. 3. — M. Th... Lésions cavitaires très étendues des deux poumons. Malade cachectique. Quinze jours avant la mort, la température s'abaisse et le malade tombe en hypothermie. L'analyse de sang faite à ce moment est négative. Cuti-réaction négative.

Obs. 4. — Mme B... Lésions cavitaires étendues d'un poumon et foyer de râles humides au sommet opposé. Quelques jours avant l'analyse du sang, la malade a commencé une poussée évolutive aiguë devant se terminer par la mort deux mois après. Température très élevée dépassant 39° au moment de la prise de sang. Une cuti-réaction faite le même jour reste négative ; analyse de sang négative.

Obs. 5. — M. R... Tumeur blanche fistulisée du genou gauche. Lésions assez étendues d'un poumon avec nombreux râles humides.

Fièvre élevée avec grandes oscillations journalières. Mauvais état général. Cuti-réaction négative. L'analyse du sang est négative. Les jours suivants, on fait d'autres prises de sang pour inoculer un cobaye selon la technique que nous décrirons plus loin. A l'autopsie faite trois mois plus tard, le cobaye est complètement indemne de tuberculose.

Décès du malade deux mois après l'analyse du sang.

Dans les cas où l'analyse fut positive, la quantité de bacilles trouvés a presque toujours été très faible. La quantité moyenne a été de dix à vingt bacilles pour les 20 centimètres cube de sang examinés ; dans plusieurs cas, elle fut même moindre, et on ne put déceler que deux ou trois bacilles dans chacune des deux lames examinées.

Très rarement, la quantité de bacilles trouvée à l'analyse a été plus forte. Nous avons noté une fois une trentaine de bacilles dans chaque lame, une autre fois, 36 bacilles dans une lame et une trentaine dans l'autre, et dans un autre cas, une cinquantaine de bacilles dans chaque lame. Deux autres fois, nous avons trouvé plus de vingt bacilles sur chaque lame examinée.

Lorsque les bacilles sont plus nombreux dans le sang, le phénomène est passager, car une deuxième analyse faite après un mois d'intervalle chez le malade qui avait eu une trentaine de bacilles sur chaque lame, ne permit plus de déceler que huit bacilles dans les 20 centimètres cubes de sang examinés.

Nous n'avons pas pu trouver d'explication valable à cette augmentation temporaire du nombre des bacilles dans le sang, car elle ne coïncidait avec aucun phénomène clinique, avec aucun signe général ou fonctionnel qui puisse en faire soupçonner la cause. Elle n'est certainement pas due à la déglutition des crachats, et par suite à une résorption abondante de bacilles par l'intestin, car dans deux cas les malades ne crachaient pas, et on ne put trouver de bacilles dans leurs crachats que grâce à l'épreuve de l'iode.

Nous discuterons plus loin la valeur et la signification des résultats que nous avons obtenu, après avoir exposé la technique et les résultats des inoculations faites au cobaye. Avant de terminer ce chapitre, nous signalerons encore un détail dont nous montrerons plus loin l'intérêt :

En prélevant une parcelle du culot de centrifugation qui reste après le laquage du sang, avant l'homogénéisation des leucocytes, en l'étalant sur lame et en la colorant au Ziehl, nous avons pu dans 5 cas trouver des bacilles intracellulaires, à l'intérieur de polynucléaires. Ces bacilles, souvent de types granuleux, étaient toujours très nets.

Dans un cas, une analyse des crachats du malade fut faite le même jour, et permit de trouver de nombreux bacilles intra-cellulaires dans les crachats, également à l'intérieur de polynucléaires.

PROCÉDÉ D'INOCULATION AU COBAYE

Nous avons déjà signalé le défaut capital des méthodes employées jusqu'à l'heure actuelle : c'est l'inoculation d'une quantité de sang trop faible pour avoir des résultats de valeur absolue.

Ne pouvant injecter aux cobayes plus de 8 à 10 centimètres cubes de sang au maximum sous peine de faire périr les animaux en expérience, nous avons employé des moyens détournés pour réaliser l'examen d'une plus grande quantité de sang.

Dans une première série d'expériences, nous avons hémolysé le sang avec le liquide qui nous a servi pour la recherche des bacilles par examen direct :

Alcool à 40 degrés.....	100
Citrate de soude.....	0,25

puis nous avons inoculé le culot de centrifugation.

Nous avons inoculé de cette façon une série de 20 cobayes avec le culot de centrifugation de 60 et même de 80 centimètres cubes de sang. Nous n'avons obtenu que des résultats très inconstants. Mais il est évident que le contact prolongé (la centrifugation avec un seul appareil, de la quantité de liquide nécessaire pour hémolyser 60 centimètres cubes de sang

demande au moins deux heures) des bacilles du sang avec l'alcool à 40 degrés peut altérer la vitalité de ces bacilles. Les inoculations n'ont par suite aucune valeur en cas de résultats négatifs.

Nous avons alors employé le procédé suivant que nous croyons exempt de toute cause d'erreur :

On prélève le sang du malade par ponction veineuse au pli du coude avec une seringue de 10 centimètres cubes.

Pour éviter la coagulation du sang dans la seringue, nous la garnissons au préalable de 1 centimètre cube de solution à 10/0 de citrate de soude stérilisée et conservée en ampoules scellées. On aspire 7 à 8 centimètres cubes de sang qu'on injecte immédiatement dans le péritoine d'un cobaye.

On isole celui-ci et on le laisse reposer quarante-huit heures.

A ce moment le péritoine du cobaye a résorbé la plus grande partie du sang de la première inoculation, et on peut recommencer l'opération sans inconvénients.

On peut ainsi faire de deux en deux jours 4 inoculations et injecter de 25 à 32 centimètres cubes de sang du même malade au même cobaye, sans danger pour l'animal.

Les inoculations étant faites en huit jours, il n'y a pas à craindre d'accidents sériques ni de phénomènes d'allergie.

Nous n'avons pas osé dépasser la dose de 32 centimètres cubes de sang injectée en quatre fois, car

un de nos cobayes qui avait reçu 35 centimètres cubes de sang est mort quelques heures après la dernière inoculation. Tous les autres animaux ayant reçu au maximum 32 centimètres cubes de sang ont survécu à l'inoculation.

Observations et résultats

Avec la technique que nous venons de décrire, nous avons inoculé à 17 cobayes le sang de 17 malades tuberculeux présentant des lésions très variées.

Nous en donnons ci-dessous les observations dans leurs traits essentiels.

Obs. 1. — Mlle L..., 23 ans, malade depuis trois ans. Tuberculose pulmonaire chronique entrecoupée de poussées évolutives.

Au moment des prises de sang, elle présente des râles humides assez denses dans le tiers supérieur du poumon droit ; à gauche de la rudesse respiratoire et quelques craquements à la toux sous la clavicule. Pas de signes généraux d'évolution. La température vespérale qui ne dépasse pas 37°4, est fixe depuis plus de trois mois. Bon état général. Expectoration peu abondante renfermant des bacilles de Koch.

On fait de deux en deux jours 4 prises de sang qu'on inocule immédiatement à un cobaye. Celui-ci reçoit de cette façon 25 centimètres cubes de sang dans son péritoine.

Autopsie du cobaye quatre-vingt-six jours après la première inoculation de sang.

La rate est hypertrophiée, presque doublée de volume, mais sans lésions apparentes.

Le foie présente dans un de ses lobes 4 ou 5 granulations miliaires encore très petites et non caséeuses.

On observe à la base du poumon gauche quelques granulations miliaires analogues à celles du foie, et une plus grosse dont le centre commence à se caséifier.

Tous les ganglions sont hypertrophiés, mais surtout les ganglions lombaires, trachéo-bronchiques et rétro-sternaux. Un de ceux-ci, dont le volume dépasse celui d'un gros grain de maïs est caséeux dans sa moitié supérieure.

Obs. 2. — Mlle B..., 22 ans. Tuberculose pulmonaire chronique avec plusieurs poussées congestives accompagnées de fièvre et d'hémoptysies. Au moment des prises de sang : râles humides fixes qui s'entendent au niveau du sein gauche, dans l'aisselle et la fosse sous-épineuse. Au sommet droit, rudesse respiratoire et craquements à la toux. Expectoration peu abondante renfermant des bacilles tuberculeux. Bon état général. Pas de fièvre ni d'hémoptysie depuis plusieurs mois, 28 centimètres cubes de sang sont inoculés au cobaye en quatre fois.

Autopsie du cobaye soixante-huit jours après la première inoculation.

Rate hypertrophiée sans lésions. Dans le foie, 2 ou 3 granulations miliaires très petites, non caséifiées. Poumons sains. Hypertrophie de tous les ganglions, surtout des ganglions lombaires dont le volume dépasse celui d'un grain de maïs, des ganglions mésentériques, des ganglions trachéo-

bronchiques et rétro-sternaux. En l'absence de lésions caséeuses, nous concluons seulement : tuberculose probable.

Obs. 3. — M. A..., 38 ans. Première manifestation de tuberculose avec fièvre et hémoptysies il y a dix ans. Guérison. Mobilisé pendant la guerre durant dix-huit mois, dont six mois comme infirmier dans un service de tuberculeux. A ce moment, poussée aiguë de tuberculose avec fièvre et plusieurs hémoptysies abondantes. Depuis, évolution torpide.

Au moment de l'inoculation du sang au cobaye :

Lésions cavitaires du sommet gauche, avec souffle et gargouillement au-dessus et au-dessous de la clavicule.

A droite, foyer limité de râles fixes sous la clavicule.

Bon état général ; pas de fièvre, ni d'hémoptysie depuis au moins un an. Crachats nummulaires peu abondants renfermant de nombreux bacilles de Koch.

25 centimètres cubes de sang sont inoculés au cobaye en quatre fois. Autopsie du cobaye quatre-vingt-dix-huit jours après la première inoculation du sang :

On trouve dans le foie 5 ou 6 granulations miliaires de la grosseur d'une tête d'épingle, et non caséifiées.

Un des poumons présente une lésion de la grosseur d'un grain de blé paraissant due à la congglomération de plusieurs follicules tuberculeux, et caséifiée au centre. Dans le même poumon et dans le poumon opposé on trouve aussi plusieurs granulations analogues à celles du foie et non encore caséifiées. La rate est doublée de volume mais sans lésions. Tous les ganglions sont hypertrophiés. Un des ganglions lombaires, très gros, à son centre caséeux. Une partie de la

matière caséuse est étalée sur lames et colorée au Ziehl, avec décoloration à l'acide nitrique au tiers et à l'alcool absolu. Après une recherche assez longue, on trouve plusieurs bacilles de Koch typiques.

Obs. 4. — Mlle Le G..., 21 ans. Malade depuis deux ans. Tuberculose pulmonaire à évolution rapide ayant abouti à la formation d'une caverne du sommet droit. Un pneumothorax artificiel est créé. Au moment des prises de sang, le pneumothorax date de huit mois.

Bon état général. Température vespérale : 37°2. La malade ne crache plus. Pas de signes généraux d'évolution.

On inocule au cobaye 28 centimètres cubes de sang en quatre fois. Le cobaye est autopsié quatre-vingt-douze jours après la première inoculation.

On note quelques granulations miliaires très petites dans le foie et dans l'un des poumons.

La lésion la plus importante siège dans la capsule surrénale droite, dont le centre commence à se caséifier.

Rate hypertrophiée sans lésions. Tous les ganglions sont très hypertrophiés, les ganglions lombaires, sous-hépatique, et trachéo-bronchiques surtout, mais sans lésions caséuses.

Obs. 5. — M. T..., 25 ans. Malade depuis deux ans. Tuberculose pulmonaire chronique avec foyers de râles fixes au sommet et à la base gauche, et quelques craquements sous la clavicule droite.

Au moment des prises de sang, pas de fièvre, bon état général.

Expectoration peu abondante renfermant des bacilles tuberculeux.

Pas de signes généraux d'évolution.

Un cobaye est inoculé en quatre fois avec 29 centimètres cubes de sang.

Autopsie du cobaye quatre-vingt-dix-huit jours après la première inoculation.

On trouve dans la rate plusieurs petits tubercules non encore ramollis. Le foie est indemne. Les poumons contiennent plusieurs granulations miliaires très petites et non caséuses.

Tous les ganglions sont hypertrophiés, surtout les ganglions lombaires dont l'un est caséeux. Un des ganglions rétro sternaux est également caséifié; une parcelle de matière caséuse, colorée au Ziehl contient de rares bacilles tuberculeux.

Obs. 6. — M. C..., 43 ans. Interné en Suisse pendant la guerre et soigné à Leysin pour tuberculose pulmonaire. En 1919, pleurésie purulente avec liquide renfermant de nombreux bacilles de Koch; 7 à 8 litres de liquide sont évacués en plusieurs ponctions successives et remplacés par de l'azote. Un examen du sang par notre méthode d'examen direct montre la présence de bacilles dans le sang: (une quinzaine de bacilles bien nets pour 20 centimètres cubes de sang examinés).

Au moment de l'inoculation au cobaye, le malade est très amélioré: pas de fièvre; bon état général. Il reste dans les sinus diaphragmatiques un peu de liquide qui n'a pas tendance à se reproduire.

Le cobaye qui a reçu 30 centimètres cubes de sang est autopsié huit mois après l'inoculation. A l'autopsie: tuber-

culose généralisée. Nombreux tubercules disséminés dans le foie, la rate, les poumons. Plusieurs ganglions commencent à se caséifier. Une parcelle de matière caséuse colorée au Ziehl contient des bacilles de Koch.

Obs. 7. — M. L..., 29 ans. Tuberculose pulmonaire évoluant rapidement depuis un an. Au moment des prises de sang, lésions cavitaires étendues des deux poumons; température irrégulière à grandes oscillations journalières. Malade cachectique. Une cuti-réaction faite le jour d'une des prises de sang reste négative. Décès du malade trois semaines après la dernière inoculation au cobaye.

A l'autopsie, faite quatre-vingt douze jours après la première inoculation, le cobaye, qui a reçu 27 centimètres cubes de sang, est complètement indemne de tuberculose. On note seulement une légère hypertrophie d'un des ganglions lombaires, qui atteint le volume d'un grain de blé.

Obs. 8. — M. Q..., 29 ans. Malade depuis sept ans; petite caverne du sommet droit à évolution torpide. Pas de fièvre, bon état général. Expectoration peu abondante renfermant des bacilles de Koch. Pas de signes généraux d'évolution.

Un cobaye est inoculé en quatre fois avec 31 centimètres cubes de sang et autopsié quatre-vingt treize jours après la première inoculation.

On trouve plusieurs tubercules dans le foie et dans la rate, les plus gros commençant à se ramollir au centre. Quelques rares granulations miliaires existent dans le poumon.

Hypertrophie de tous les ganglions. Les ganglions lombaires, et l'un des ganglions rétro-sternaux sont caséux.

Obs. 9. — Mlle V..., 32 ans. Malade depuis deux ans. Est entrée au sanatorium avec des lésions d'induration du sommet gauche, et a fait depuis une poussée cortico-pleurale de la base gauche.

Au moment de l'inoculation au cobaye, il reste de la rudesse respiratoire du sommet gauche, et quelques frottements pleuraux à la base. La température vespérale atteint 37°5 au maximum.

Bon état général. La malade ne crache pas, mais on a pu trouver des bacilles dans un crachat obtenu après absorption d'iodure de potassium.

Deux analyses de sang faites antérieurement par notre méthode d'examen direct ont été positives.

Un cobaye est inoculé avec 32 centimètres de sang, et autopsié quatre-vingt-dix jours après l'inoculation. On trouve dans le foie, plusieurs tubercules dont les plus gros commencent à se caséifier. La rate est hypertrophiée, mais sans lésions apparentes. Les poumons renferment quelques tubercules encore très petits et non caséifiés. Tous les ganglions sont hypertrophiés, en particulier les ganglions lombaires qui sont caséux. Un des ganglions rétro-sternaux est également caséux.

Obs. 10. — M. C..., 35 ans. Malade depuis quatre ans. Tuberculose pulmonaire chronique entrecoupée de poussées congestives avec fièvre et hémoptysies. Au moment de l'inoculation au cobaye : rudesse respiratoire du sommet droit, avec foyer très limité de craquements à la toux dans la fosse sus-claviculaire. A gauche, respiration faible sans signes adventices. Bon état général ; pas de fièvre. Expecto-

ration très peu abondante renfermant par intermittences de rares bacilles de Koch.

Un cobaye est inoculé avec 29 centimètres cubes de sang. A l'autopsie faite quatre-vingt-treize jours après l'inoculation, on trouve quelques tubercules dans le foie et la rate, et de rares granulations miliaires très petites dans le poumon. Le péricarde renferme un peu de liquide, et on trouve deux tubercules très nets sur la face cardiaque du péricarde. Tous les ganglions sont très hypertrophiés, mais aucun n'a de lésions caséuses.

Obs. 11. — Mlle D..., 35 ans. Première atteinte de tuberculose il y a onze ans. Guérison. Rechute il y a quatre ans. Lésions cortico-pleurales du poumon gauche à évolution très lente.

Au moment de l'inoculation au cobaye, il reste de la faiblesse respiratoire à la base gauche avec quelques craquements secs superficiels et quelques frottements pleuraux. Bon état général ; pas de fièvre, pas d'expectoration.

Une analyse de sang faite avec notre procédé d'examen direct montre la présence de bacilles de Koch.

Un cobaye est inoculé et reçoit 30 centimètres cubes de sang dans son péritoine. Autopsie du cobaye cent soixante jours après l'inoculation. On trouve quelques rares tubercules très petits dans le foie et dans les poumons. La rate est légèrement hypertrophiée sans lésions. Tous les ganglions sont hypertrophiés, mais sans lésions caséuses. Des préparations histologiques sont faites avec les lésions du foie et du poumon, et montrent la structure folliculaire nette avec

cellules géantes, ce qui permet d'affirmer la tuberculisation du cobaye.

Obs. 12. — Mlle Br..., 27 ans. Malade depuis deux ans. Tuberculose pulmonaire chronique entrecoupée de poussées évolutives. Au moment des prises de sang : râles humides disséminés dans la moitié supérieure du poumon droit. A gauche, respiration rude et petit foyer de râles fixes au niveau du sein. Bon état général. Pas de fièvre. Expectoration peu abondante renfermant des bacilles de Koch.

Un cobaye est inoculé avec 28 centimètres cubes de sang et autopsié quatre-vingt seize jours après la première inoculation.

On trouve plusieurs tubercules dans le foie, dont deux ou trois commencent à se caséifier, et quelques petits tubercules dans les poumons.

Rate hypertrophiée sans lésions. Tous les ganglions sont très hypertrophiés, mais sans lésions caséieuses.

Obs. 13. — Mlle G..., 22 ans. Malade depuis cinq ans. Lésions cortico-pleurales de la base gauche à évolution lente, et très améliorées au moment de l'inoculation au cobaye. La malade a repris son travail depuis plusieurs mois, et travaille plusieurs heures par jour sans aucune fatigue ni fièvre. Très bon état général. Pas d'expectoration. La malade serait considérée comme guérie sans la persistance d'un foyer limité de craquements secs à la base gauche.

Trois analyses de sang faites en l'espace d'un an avec notre méthode d'examen direct ont été positives.

Un cobaye est inoculé avec 31 centimètres cubes de sang

et autopsié cent deux jours après l'inoculation. On trouve plusieurs tubercules dont certains commencent à se caséifier dans le foie et la rate ; et quelques rares tubercules très petits dans les poumons.

Tous les ganglions sont très hypertrophiés, en particulier les ganglions lombaires qui sont caséeux. Un ganglion mésentérique est également caséifié en partie.

Obs. 14. — M. S..., 28 ans. Malade depuis cinq ans. Tuberculose pulmonaire unilatérale à évolution lentement progressive pour laquelle un pneumothorax artificiel a été créé trois mois avant l'inoculation du sang au cobaye.

Pas de fièvre. Bon état général. Expectoration très peu abondante renfermant des bacilles de Koch.

Un cobaye est inoculé avec 29 centimètres cubes de sang et autopsié soixante-deux jours après l'inoculation. Hypertrophie très marquée de tous les ganglions, en particulier des ganglions lombaires, trachéo-bronchiques et rétrosternaux, mais sans lésions caséeuses. La tuberculisation du cobaye est seulement probable.

Obs. 15. — M. B..., 44 ans. Malade depuis un an. Tuberculose pulmonaire chronique et laryngite tuberculeuse.

Au moment des prises de sang, on note de la rudesse respiratoire au sommet droit. A gauche, la respiration est faible, très rude, avec quelques craquements secs dans la zone d'alarme.

L'examen du larynx montre de l'infiltration des aryténoïdes, et une ulcération superficielle de la corde vocale gauche.

Bon état général. Pas de fièvre. Expectoration très peu abondante renfermant de rares bacilles de Koch.

Un cobaye inoculé avec 30 centimètres cubes de sang est autopsié soixante-neuf jours après l'inoculation. A l'autopsie, on trouve plusieurs tubercules franchement caséeux dans la rate, et d'autres plus petits et non encore caséifiés dans le foie. Les poumons sont intacts. Tous les ganglions sont très hypertrophiés, en particulier les ganglions lombaires qui sont caséifiés.

Obs. 16. — M. R..., observation déjà citée à propos des analyses de sang par examen direct. Tumeur blanche fistulisée du genou gauche et lésions étendues d'un poumon. Malade cachectique mort deux mois après l'inoculation du sang. Cuti-réaction négative.

Le cobaye qui a reçu 30 centimètres cubes de sang est autopsié quatre-vingt-quinze jours après l'inoculation et est complètement indemne de tuberculose.

Obs. 17. — Mme L. L..., 26 ans. Malade depuis deux ans. Tuberculose pulmonaire évoluant rapidement depuis six mois à la suite d'une grossesse.

Au moment de l'inoculation au cobaye : lésions cavitaires étendues des deux poumons. Température très élevée à grandes oscillations. Etat cachectique. Une cuti-réaction faite la même semaine que les prises de sang reste négative. Décès de la malade deux mois après les prises de sang. Le cobaye inoculé avec 28 centimètres cubes de sang est autopsié après quatre-vingt-onze jours et n'a aucune lésion tuberculeuse.

En résumé, sur 17 observations, nous relevons 14 malades atteints de tuberculose chronique, et 3 malades graves, arrivés à la période ultime de la tuberculose. Dans ces 3 cas, l'inoculation du sang fut négative. Dans les autres cas, nous avons obtenu 12 résultats positifs et 2 résultats douteux. Il est à remarquer que dans ces 2 cas, les cobayes ne furent autopsiés que deux mois environ après l'inoculation.

Il est également remarquable que les cobayes autopsiés au bout de trois à cinq mois n'ont souvent que des lésions minimales compatibles avec une survie assez longue. Fréquemment on ne trouve à l'autopsie qu'un ou deux ganglions caséeux, et quelques petits tubercules disséminés dans le foie, la rate ou les poumons. Dans un cas douteux, où le cobaye fut cependant autopsié cent soixante jours après l'inoculation, on ne put affirmer la tuberculisation du cobaye qu'après examen histologique des lésions trouvées.

Un seul cobaye, qui fut autopsié plus de huit mois après l'inoculation avait des lésions vraiment généralisées :

Au cours des autopsies de nos cobayes, nous avons remarqué un autre détail intéressant. Dans plusieurs cas, nous avons trouvé des lésions atypiques chez le cobaye, par exemple, des tubercules sur le péricarde, ou des lésions caséeuses des surrénales. De semblables localisations n'ont été signalées que chez des cobayes inoculés avec des bacilles

de virulence atténuée, ou avec de très petites doses de bacilles.

Ce phénomène, ainsi que la lenteur d'évolution de la tuberculose chez le cobaye, démontre bien que les bacilles tuberculeux ne sont présents dans le sang qu'en très petite quantité, et que, au cours de la tuberculose chronique, tout au moins, il ne s'agit en aucun cas de septicémie véritable.

Une autre conclusion s'impose après les remarques que nous venons de faire. Si l'on reprend nos expériences, et qu'on inocule du sang au cobaye avec une technique quelconque, il faudra laisser vivre les animaux en expérience cinq à six mois au moins, pour être certain que l'inoculation est positive ou négative.

DÉTERMINISME DE LA BACILLÉMIE

La faible quantité des bacilles présents dans le sang, au cours de la tuberculose chronique, interdit de songer à une septicémie pour en expliquer le mécanisme.

Dès lors, quelle interprétation donner à ce fait que nous croyons avoir bien établi par les expériences précédentes : la fréquence et la constance d'une bacillémie très faible chez les tuberculeux pulmonaires chroniques ?

A ce propos, insistons de nouveau sur ce fait très important, que tous les cas positifs concernent des malades atteints de tuberculose chronique, avec bon état général, en voie d'amélioration, ou au moins chez qui les défenses de l'organisme ne sont pas annihilées. Au contraire, les rares cas où nous n'avons pu mettre de bacille en évidence dans le sang, concernent des épisodes aigus ou terminaux de la tuberculose. Chez ces malades, nous avons fait le jour même de la prise de sang, une cuti-réaction avec de la tuberculine de l'Institut Pasteur, et chaque fois le résultat fut négatif. Il y avait donc chez ces malades anergie tuberculinique, qui, d'après les travaux récents, semble être l'indice d'un fléchissement de l'état d'immunité de l'organisme.

Ce fait revêt à nos yeux une très grande importance, car on peut en déduire que la bacillémie n'est pas un phénomène passif, mais bien un phénomène actif.

Elle apparaît comme un phénomène de défense qui est aboli en même temps que fléchit la résistance de l'organisme.

Comment expliquer le mécanisme de cette réaction défensive ?

Un rapprochement fait avec d'autres expériences, nous permettra peut-être de trouver la clef du problème.

Nous voulons parler des recherches faites sur l'élimination des bacilles tuberculeux par les voies naturelles de l'organisme : bile, intestin, lait, etc.

Qu'on nous permette de rappeler ici les principaux résultats auxquels elles ont conduit.

Calmette, le premier, démontra la présence très fréquente de bacilles tuberculeux dans la bile par inoculation au cobaye de bile de lapin tuberculeux, puis de bovidés tuberculeux.

De même, Joest et Emsthoff, constatèrent l'élimination des bacilles par la bile chez les animaux naturellement infectés. Ils la trouvent dans 25 0/0 des cas. Mais Calmette fait remarquer avec raison que ce pourcentage doit être réellement beaucoup plus élevé car la quantité de bile inoculée, 0 cc. 5, est infime par rapport à la quantité journalièrement sécrétée par les bovidés (2 litres).

Parallèlement, divers auteurs ont constaté la pré-

sence de bacilles de Koch dans les déjections des hommes et des animaux atteints de tuberculose.

Alexander trouve des bacilles cinquante-deux fois sur 74 sujets atteints de tuberculose non ouverte (pleurésies, ganglions, tuberculoses osseuses). Philip et Porter, chez l'homme, obtiennent un pourcentage de 75 0/0, 42 0/0 des malades examinés n'ont aucun bacille dans leurs crachats. Laird, Kite et Stewart, trouvent 48 échantillons de déjections virulentes pour le cobaye sur 87 cas examinés.

De même, Schroeder et Cotton, ont prouvé que 40 0/0 des vaches qui réagissent à la tuberculine, mais qui ne présentent aucune lésion clinique décelable, émettent par intermittence des bacilles virulents dans leurs déjections.

Les constatations de Peter et Emerson, de Titz et Jahn, de Thieringer, de Lydia Rabinowitch, etc., aboutissent à des résultats identiques.

De nombreux auteurs ont également prouvé l'élimination de bacilles par le lait, même quand les animaux en expérience sont indemnes de toute lésion mammaire, mais réagissent à la tuberculine.

Calmette, après avoir fait la critique de tous ces travaux, tire la conclusion : On doit donc admettre, écrit-il, que fréquemment, des bacilles sont amenés au foie par la circulation sanguine, et éliminés ensuite par la bile (Infection bacillaire, p. 409.)

Il est difficile de ne pas faire un rapprochement entre ces faits et la constatation d'une bacillémie faible et constante chez la grande majorité des tuber-

culeux ; et il est probable que dans nos analyses nous saisissons le passage dans le sang des bacilles en voie d'élimination.

Un autre fait vient confirmer cette hypothèse, c'est la constatation que nous avons pu faire 5 fois de bacilles intracellulaires à l'intérieur des polynucléaires du sang.

Dans ces conditions, il est logique de supposer que des leucocytes ayant phagocyté des bacilles au niveau des lésions tuberculeuses peuvent repasser dans la circulation générale. L'organisme s'en débarrasse ensuite en les éliminant par les voies naturelles d'excrétion.

Notre hypothèse ne contredit d'ailleurs nullement la possibilité d'une septicémie véritable à diverses périodes de la tuberculose.

Il se peut, et les rares inoculations positives obtenues par divers auteurs semblent le prouver, qu'à certains moments le sang soit envahi d'une façon passive, par ouverture d'un follicule tuberculeux dans un vaisseau, ou embolie microbienne, et cette septicémie passagère commanderait alors la généralisation et les métastases tuberculeuses.

Mais nous croyons que ce dernier phénomène est très rare et inconstant, et nous ne l'avons jamais observé dans nos expériences.

L'explication que nous donnons de la bacillémie tuberculeuse, n'est évidemment qu'une hypothèse, mais elle est appuyée sur des faits qui nous parais-

sent bien démontrés, et nous croyons avoir établi de façon certaine la réalité d'une bactériémie tuberculeuse discrète et constante, et en avoir montré la véritable signification.

CONCLUSIONS

1° Le bacille de Koch est présent d'une façon constante et permanente dans le sang des tuberculeux pulmonaires chroniques ;

2° Ce fait est prouvé : d'une part par le résultat des examens directs de sang faits par notre méthode personnelle, positifs dans la proportion de 100 pour 100 (67 cas).

D'autre part par le résultat de nos inoculations de sang au cobaye à doses élevées (25 à 32 cc.) positives 12 fois sur 14 ;

3° Dans les périodes aiguës ou terminales de la tuberculose, lorsque la cuti-réaction devient négative, le bacille tuberculeux disparaît généralement du sang, comme le montrent bien les résultats de nos examens directs (5 cas négatifs sur 5) et de nos inoculations au cobaye (3 cas négatifs sur 3) ;

4° Etant donné la faible quantité de bacilles trouvés par examen direct du sang, et la lenteur d'évolution de la tuberculose chez les cobayes inoculés, on peut conclure qu'il ne s'agit pas de septicémie tuberculeuse ;

5° Un rapprochement avec les expériences qui démontrent l'élimination fréquente de bacilles tuberculeux par la bile, le lait, les matières fécales, et la

constatation que nous avons faite cinq fois de bacilles tuberculeux dans les polynucléaires du sang, nous font admettre l'interprétation suivante de la bacillémie :

Des leucocytes, ayant phagocyté des bacilles tuberculeux au niveau des lésions, peuvent repasser dans la circulation générale, et l'organisme s'en débarrasse en les éliminant par les voies naturelles d'excrétion. Lorsqu'on constate la bacillémie tuberculeuse, on saisit le passage dans le sang des bacilles en voie d'élimination.

Vu : le président de la thèse,

BEZANÇON

Vu : le Doyen,

ROGER

Vu et permis d'imprimer.

le Recteur de l'Académie de Paris,

P. APPELL

BIBLIOGRAPHIE

Baron. — La bacillémie tuberculeuse. Thèse Paris, 1913.

Bernard (L.), Debré et Baron. — La présence du bacille de Koch dans le sang circulant des tuberculeux (Annales de Médecine, février 1914).

Bergeron. — Etude critique sur la présence du bacille de Koch dans le sang. Thèse Paris, 1904.

Bezançon, Griffon et Philibert. — Recherche du bacille tuberculeux dans le sang par homogénéisation du caillot (C. R. de la Société de Biologie, 10 janvier 1903).

— Causes d'erreur dans le diagnostic du bacille tuberculeux recherché dans les caillots par examen microscopique (C. R. de la Société de Biologie, 7 février 1903).

Breton, Massol et Duhot. — Recherche du bacille de Koch dans le sang au cours de l'infection expérimentale du cobaye (C. R. de la Société de Biologie, 19 avril 1913, p. 792).

Breton, Massol et Bruyant. — Technique de la transfusion du sang chez le cobaye (C. R. de la Société de Biologie, 4 janvier 1913, p. 23).

Breton et Massol. — La bacillémie tuberculeuse au cours de l'infection expérimentale du cobaye (C. R. de la Société de Biologie, 29 novembre 1913, p. 455).

Calmette. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux.

— Sur l'excrétion des bacilles tuberculeux par l'intestin et les voies biliaires (Annales de l'Institut Pasteur, février 1919).

- Calmette, Boquet et Nègre.* — Sur les sensibilisatrices tuberculeuses (C. R. de l'Académie des Sciences, 21 novembre 1921).
- Distaso.* — Are tubercle bacilli present in the blood of tuberculous patients? (Tubercle, mars 1921, p. 251).
- Jousset.* — Sur une nouvelle méthode de recherche du bacille tuberculeux (Société médicale des hôpitaux, 9 janvier 1903).
- L'inoscopie (Semaine médicale, 21 janvier 1903).
- La bacillémie tuberculeuse (Semaine médicale, 14 septembre 1904).
- Académie des Sciences, 18 mai 1908.
- Lesieur.* — Recherche directe des microbes, en particulier des bacilles de Koch par le procédé de la sangsue (Journal de Physiologie et de Pathologie générale, 15 septembre 1904).
- Læper et Louste.* — Recherche des microbes et des éléments cancéreux circulant dans le sang par l'hémolyse artificielle immédiate (Archives de Médecine expérimentale, mai 1905).
- Nobécourt et Darré.* — Recherches sur la bacillémie tuberculeuse chez les enfants par l'injection de sang au cobaye (Société d'études scientifiques sur la tuberculose, 14 novembre 1912).
- Nattan-Larrier et Bergeron.* — L'hydrohémolyse et la recherche des bacilles de Koch dans le sang (Journal de Physiologie et de Pathologie générale, novembre 1905).
- Rist, Armand-Delille et Lévy-Bruhl.* — Sur la prétendue bacillémie des tuberculeux (Société d'études scientifiques sur la tuberculose, 10 avril 1913).
- Sabathe et Buguet.* — Recherche du bacille de Koch dans le sang (C. R. de la Société de Biologie, 16 octobre 1920).
- Turquety.* — Étude des septicémies et de la bacillémie tuberculeuse dans le premier âge. Thèse Paris, 1921.

Verbizier (De). — Recherches sur la bacillémie des tuberculeux (Société d'études scientifiques sur la tuberculose, 12 décembre 1912).

— Nouvelles recherches sur la présence du bacille de Koch dans le sang circulant des tuberculeux (Revue de Médecine, 10 mars 1913, n° 3, p. 161).

La bibliographie étrangère est donnée de façon complète dans les mémoires de Calmette et de L. Bernard, Debré et Baron.

